

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 62-016497

(43)Date of publication of application : 24.01.1987

(51)Int.Cl.

C07H 19/10

(21)Application number : 60-154930

(71)Applicant : TAKEDA CHEM IND LTD

(22)Date of filing : 12.07.1985

(72)Inventor : FUJIWARA YOSHITAKA
HIDAKA HIROAKI
SHIBATA TETSUO

(54) PURIFICATION OF CYTIDINE-5'-DIPHOSPHATE CHOLINE

(57)Abstract:

PURPOSE: To purify the titled compound economically on an industrial scale, by contacting an aqueous solution of crude cytidine-5'-diphosphate choline with a strongly acidic ion exchange resin and a weakly basis ion exchange resin, thereby specifically adsorbing and removing the impurity components from the solution.

CONSTITUTION: An aqueous solution of a chemically synthesized crude cytidine-5'-diphosphate choline (abbreviated as CDP-choline) is made to contact with a strongly acidic ion exchange resin (e.g. a resin produced by sulfonating a crosslinked polystyrene) and a weakly basic ion exchange resin, preferably by using a column, and usually, the treated aqueous solution is concentrated. The CDP-choline can be crystallized by purifying the concentrated solution with an alcohol. The CDP-choline solution used as the raw material has a CDP-choline concentration of preferably 3W10wt%.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2000 Japan Patent Office

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑪ 公開特許公報(A)

昭62-16497

⑫ Int. Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 昭和62年(1987)1月24日

C 07 H 19/10

6742-4C

審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

⑭ 発明の名称 シチジン-5'-ジリン酸コリンの精製法

⑮ 特 願 昭60-154930

⑯ 出 願 昭60(1985)7月12日

⑰ 発 明 者	藤 原	好 孝	光市岩狩町184番地の3
⑱ 発 明 者	日 高	博 明	山口県熊毛郡熊毛町大字大河内700番地の421
⑲ 発 明 者	柴 田	鉄 夫	下松市大字生野屋942番地の1
⑳ 出 願 人	武田薬品工業株式会社		大阪市東区道修町2丁目27番地
㉑ 代 理 人	弁理士 岩 田 弘		

明 細 書

1. 発明の名称

シチジン-5'-ジリン酸コリンの精製法

2. 特許請求の範囲

化学的合成法により製造された粗製のシチジン-5'-ジリン酸コリンの水溶液を強酸性イオン交換樹脂および弱塩基性イオン交換樹脂と接触させることを特徴とするシチジン-5'-ジリン酸コリンの精製法。

3. 発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明はシチジン-5'-ジリン酸コリン(以下、CDP-コリンと称する。)の精製法に関する。

従来の技術

CDP-コリンは脳代謝賦活剤として用いられている物質であって、その製造法としては微生物を用いる方法と化学的に合成する方法とが知られている。

化学的合成法によるCDP-コリンの製造法と

しては、たとえばシチジン-5'-モノリン酸(以下、5'-CMPと略称する。)とホスホリルコリンとを原料とし、これらをシクロヘキシルカルボジイミドの存在下に反応させる方法[ジャーナル オブ バイオロジカル ケミストリー(J. Biol. Chem.)第222巻185頁(1956年)]、5'-CMPのアミド類とホスホリルコリンとを反応させる方法[特公昭42-1384号公報]、5'-CMPとホスホリルコリンのアミド類とを反応させる方法[特公昭45-4747号公報]などが提案されている。しかし、これらいずれの方法においても反応は定量的には進行しないで、反応生成物中には目的物であるCDP-コリンのほかに、未反応の原料や副反応により生成した副生成物が不純物として存在している。このような不純物はその種類が多いうえに、CDP-コリン自体の物理化学的性質に類似する物質も含まれており、このような不純物を含む粗製のCDP-コリンから不純物を除去するには、未だ数多くの課題が残されている。

特開昭62-16497(2)

従来、化学的合成法により製造された粗製のCDP-コリンを精製する方法として、活性炭を用いる方法、強塩基性イオン交換樹脂を用いる方法、あるいはこれらを併用する方法が提案されている。

しかしながら、これら精製法は、いずれもCDP-コリン、さらには数種の不純物を、まず活性炭やイオン交換樹脂に吸着させ、続いて吸着されたCDP-コリンと不純物とを各種溶剤を用いて分別溶出させる方法であり、このような方法では(i)大量の活性炭あるいはイオン交換樹脂を必要とする、(ii)溶剤として水のほかに硫酸、アンモニア、アルコールなどの各種酸、アルカリ、溶剤を必要とする、(iii)溶出液中のCDP-コリン濃度が低く、濃縮などによるCDP-コリンの採取に多量のエネルギーを必要とする、(iv)溶出に用いた酸、アルカリ、溶剤などの回収に煩雑な操作を必要とするなどの欠点があるため工業的精製法としては必ずしも有利な方法とはいえない。

問題点を解決するための手段

本発明者らは、従来技術が有するこのような欠

たとえば遊離のアミド、モノメチルアミド、ジエチルアミド、モルホリドなど)、またホスホリルコリンの反応性誘導体としては、たとえばホスホリルコリンのアミド類(たとえば遊離のアミド、モノメチルアミド、ジエチルアミド、モルホリドなど)などがある。本反応は、通常非水系の有機溶媒(たとえばo-クロロフェノール、トリクレゾール、アセトニトリル、ピリジンなど)中で行なわれる。このような反応により得られた粗製のCDP-コリンには未反応原料あるいはこれに起因する不純物のほかに、副反応により生成した不純物(たとえばジシチジニロリン酸エステル、シチジン-5'-ジリン酸など)が含まれている。

このような粗製のCDP-コリンから、その水溶液を調製するには反応生成物に水を加えればよい。通常CDP-コリンの濃度がほぼ1~30重量%(好ましくは、ほぼ3~10重量%)になるように水を加える。反応は通常有機溶媒中で行なわれるが、このような場合には反応液から有機溶媒を留去して濃縮したのち水を加えて水溶液とする

点を克服すべく鋭意検討の結果、特定の2種のイオン交換樹脂を使用することにより粗製のCDP-コリン水溶液から不純物のみを特異的に吸着除去できることを見出した。

すなわち、本発明は化学的合成法により製造された粗製のシチジン-5'-ジリン酸コリンの水溶液を強酸性イオン交換樹脂および弱塩基性イオン交換樹脂と接触させることを特徴とするシチジン-5'-ジリン酸コリンの精製法である。

本発明における、化学的合成法によって製造された粗製のシチジン-5'-ジリン酸コリン(以下、単に粗製のCDP-コリンと略称する。)としては、たとえば5'-CMPまたはその反応性誘導体とホスホリルコリンまたはこれらの塩、あるいは5'-CMPとホスホリルコリンの反応性誘導体またはこれらの塩を反応させることにより製造されたものを挙げることができる。このような原料化合物を用いるCDP-コリンの製造法は、すでに公知であり、5'-CMPの反応性誘導体としては、たとえば5'-CMPのアミド類(た

か、あるいは反応液にエーテルなどを加えたのち、水で抽出することにより粗製のCDP-コリンの水溶液を得ることができる。

本発明では、このようにして得られた水溶液を強酸性イオン交換樹脂と弱塩基性イオン交換樹脂との再樹脂に接触させる。

本発明で用いることのできる強酸性イオン交換樹脂としては、-SO₃Hを活性基とする強酸性のイオン交換樹脂を挙げることができ、通常架橋ポリスチレンをスルホン化した樹脂が用いられる。このような強酸性イオン交換樹脂として、たとえばアンバーライト[®] IR-124、200、252(オルガノ(株)製)、ダイヤイオン[®] PK-208、216、228、ダイヤイオン[®] SK-110、ダイヤイオン[®] HPK-25、30、55(三菱化成工業(株)製)、ダウエックス[®] 50WX8、MSC-1(ダウケミカル社(株)製)などを挙げることができる。このような強酸性イオン

特開昭62-16497(3)

交換樹脂は、H型を用いる。この樹脂の使用量は、不純物の種類あるいはその量によっても左右されるが、通常処理されるべき粗製のCPD-コリン100g当たりほぼ500~3000ccである。

また、本発明で用いることのできる弱塩基性イオン交換樹脂としては、第3級アミン、ポリアミンなどを活性基とする有効pH範囲0~9のイオン交換樹脂を挙げることができる。このような弱塩基性イオン交換樹脂としては、たとえばアン

パーライト^⑩IRA-68, 93, 94, IR-45(オルガノ(株)製)、ダイアイオン^⑪WA-10, 20, 30(三菱化成工業(株)製)、ダウ

エックス^⑫MWA-1, WGR(ダウケミカル(株)製)などである。このような弱塩基性イオン交換樹脂はOH型を用いる。この樹脂の使用量は、不純物の種類あるいはその量によっても左右されるが、通常処理されるべき粗製のCPD-コリンの100g当たりほぼ200~500ccである。これら両樹脂に粗製のCPD-コリンの水溶液を接

することができる。

粗製のCPD-コリンの水溶液を両樹脂に接触処理させたあとの水溶液は、そのまま濃縮し、濃縮液を常法によりアルコールで品出することにより純品のCPD-コリン1水和物の結晶を得ることができる。

なお、粗製の、あるいは精製されたCPD-コリンの水溶液中に含まれる不純物は高速液体クロマトグラフィー(UV検出またはRI検出)を用いて分析することができる。

本発明の作用効果

本発明の精製法によれば、粗製のCPD-コリンに含まれる不純物成分のみが選択的に吸着除去されるため、従来の吸着炭、吸着樹脂による精製法と比べて樹脂の使用量が大幅に減少し、また水以外の特殊な溶剤を必要としない。このため、極めて高濃度のCPD-コリンを含有する精製液を得ることができる。また本精製法では精製収率が約97%以上であり、ほぼ定量的である。また本発明の精製法によれば、各種溶剤などの回収

させる方式としては、バッチ式と塔式とを挙げることができる。一般に効率の面からみて塔を用いるのが好ましい。水溶液との接触は両樹脂のうちのいずれを先に行ってもよい。一般には強酸性イオン交換樹脂を先に接触させる。これら両樹脂は凝床式で用いてもよい。不純物として無機塩が含まれている場合には、まず、強酸性イオン交換樹脂で処理し、次いで弱塩基性イオン交換樹脂で処理するのがよい。塔方式の場合にはSVがほぼ0.1~5の速度で通液する。接触温度は強酸性イオン交換樹脂の場合にはCPD-コリンの加水分解を防止するため約10℃以下が好ましく、弱塩基性イオン交換樹脂の場合には室温で行なわれる。

接触処理後の樹脂は、常法により再生することができる。すなわち強酸性イオン交換樹脂については、たとえば塩酸などの鉱酸の水溶液を用いてH型に再生することができる。また弱塩基性イオン交換樹脂については、たとえば水酸化ナトリウムなどのアルカリの水溶液を用いてOH型に再生

操作が不要となるなどの利点を有している。

このように本発明は工業上極めて有用な精製法である。

以下実施例を挙げて本発明を更に具体的に説明する。

実施例 1

30gのCPD-コリン、7gのホスホリルコリンおよび1.5gの5'-CMPを含有する粗製のCPD-コリンの水溶液500ccを強酸性イオン交換樹脂充填塔[塔内径1.5cmの二重管式クロマト塔にダイアイオン^⑪HPK-25, 42~60メッシュ、H型400ccを充填(樹脂層の高さ22.5cm)したもの、外筒には5℃の冷水を通じておく]にSVが0.5の速度で通液し、通液後700ccの水を用いて水洗(SV=0.5)した。この間CPD-コリンを含有する合計950ccの溶出液を採液した。高速液体クロマトグラフィー(RI検出)による分析の結果、この溶出液中のホスホリルコリンの量は0.1g(除去率98.5%)、

特開昭62-16497(4)

5'-CMPの量は1.5gであることを確認した。

次いでこの溶出液を弱塩基性イオン交換樹脂充填塔[塔内径1.0cmのクロマト塔にダ

イヤイオン[Ⓢ]WA-30.OH型100 μ を充填したもの(樹脂層の高さ127cm)にSVが2.0の速度で通液し、通液後400 μ の水を用いて水洗(SV=2.0)した。この間CDP-コリンを含有する合計1300 μ の溶出液を採液した。この溶出液を高速液体クロマトグラフィー(UV検出)によって分析したところ、CDP-コリン量は29.4gであり、5'-CMP、その他不純物ピークは検出されなかった(CDP-コリンの回収率98.0%)。

実施例 2

6.5W/V%のCDP-コリン、1.4W/V%のホスホリルコリン、0.2W/V%の5'-CMP、1.0W/V%の5'-CMPモルホリデート、モルホリン、ジシチジンピロリン酸エステル、4-モルホリン-N,N'-ジシクロヘキシル

P-コリンが確認され、不純物ピークは認められなかった。

このCDP-コリン含有の水溶液を濃縮し、濃縮液をアルコールで品出することにより純品のCDP-コリン1水和物の結晶が得られた。この結晶の元素分析値は次の通りであった。

	C(%)	H(%)	N(%)	O(%)
分析値	33.30	5.85	11.02	12.30
計算値	33.21	5.57	11.07	12.24

実施例 3

遊離のホスホリルコリン12gとシチジン-5'-リン酸アミドのジシクロヘキシルグアニジウム塩28gとをオルトクロロフェノール500 μ に溶解させ100 $^{\circ}$ Cで16時間反応させた。反応終了後オルトクロロフェノールを減圧で殆んど濃縮留去した。この濃縮液にエーテル500 μ を加えこれを水250 μ で2回抽出した。両抽出液を合しエーテル100 μ で洗った水層に含まれるエーテルを減圧留去し液量を400 μ とした。このようにして得られた粗製のCDP-コリンの水溶液を

ルカルボジイミド、遊離リン酸、その他の不純物を含有する粗製のCDP-コリンの水溶液400 μ を強酸性イオン交換樹脂充填塔[塔内径1.5cmの

二重管式クロマト塔ヘダイヤイオン[Ⓢ]HPK-30.42~60メッシュ、H型400 μ を充填(樹脂層の高さ225cm)したもの、外筒には5 $^{\circ}$ Cの冷水を通しておく]にSVが0.5の速度で通液し、通液後600 μ の水を用いて水洗(SV=0.5)した。この間CDP-コリンを含有する合計720 μ の溶出液を採液した。

次いでこの溶出液を弱塩基性イオン交換樹脂充填塔[塔内径1.0cmのクロマト塔にアンバーライトIRA-94S.OH型60 μ を充填(樹脂層の高さ75cm)したもの]にSVが2.0の速度で通液し、通液後420 μ の水を用いて水洗(SV=2.0)した。この間CDP-コリンを含有する合計1100 μ の溶出液を採液した。

この溶出液を高速液体クロマトグラフィー(UV検出)によって分析したところ25.5gのCD

実施例2で用いたのと同じ2種のイオン交換樹脂充填塔を用いて同じ条件下で処理し、得られたCDP-コリン水溶液を高速液体クロマトグラフィーによって分析したところ不純物のピークは全く認められなかった。

この水溶液を濃縮し、濃縮液をアルコールで品出することにより純品のCDP-コリン1水和物の結晶13.9gを得た。

4. 図面の簡単な説明

第1図は実施例2で用いた粗製のCDP-コリンの水溶液の高速液体クロマトグラフィー(UV検出)による分析チャートを示す。第2図は、強酸性イオン交換樹脂と接触させて得られたCDP-コリンを含有する溶出液の高速液体クロマトグラフィー(UV検出)による分析チャートを示す。

第3図は、さらに弱塩基性イオン交換樹脂と接触させることにより得られたCDP-コリンを含有する精製液の高速液体クロマトグラフィー(UV検出)による分析チャートを示す。PはCDP-コリンのピークを示し、P₁~P₆はいずれも

特開昭62-16497 (5)

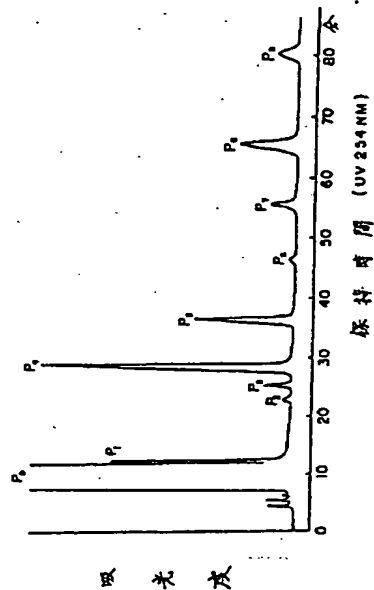
不純物のピークを示す。

代理人 弁理士 天 井 作 次

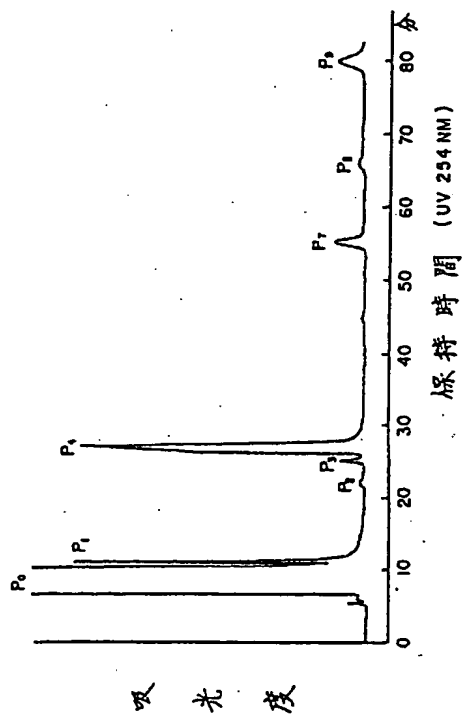


図面の淨發(内容に変更なし)

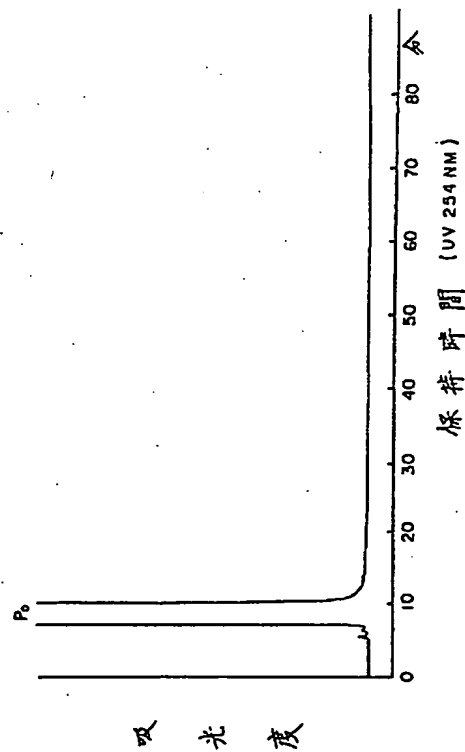
第 1 図



第 2 図



第 3 図



特開昭62-16497 (6)

手 続 補 正 書 (方式)

昭和60年11月22日



特 許 庁 長 官 殿

1. 事件の表示
昭和60年特許願第154930号
2. 発明の名称
シチジン-5'-ジリン酸コリンの精製法
3. 補正をする者
事件との関係 特許出願人
住 所 大阪市東区道修町2丁目27番地
名 称 (293) 武田薬品工業株式会社
代表者 倉 林 育 四 郎
4. 代 理 人
住 所 大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号
武田薬品工業株式会社大阪工場内
氏 名 弁 理 士 (6022) 天 井 作 次
東京連絡先(特許法規課)電話 278-2218, 2219



5. 補正命令の日付 昭和60年10月29日(発送日)
6. 補正の対象
図面の全図
7. 補正の内容
第1図、第2図および第3図をそれぞれ別紙の通りに補正(浄書)する(内容に変更なし)。
8. 添付書類の目録
(1)別紙

1通

以上

方式

